



GE Healthcare
Life Sciences

AKTA™ flux 6

사용자 설명서



GE Healthcare

Life Sciences Korea

Ver 1.1 @ 2018

내용

1. AKTA flux 6 시스템 소개.....	3
2. AKTA flux 6 시스템 구성.....	3
2.1 System Control.....	3
2.2 Standard equipment.....	6
2.3 Optional equipment.....	7
3. Filter devices.....	8
3.1 Hollow fiber cartridges	8
3.2 Kwick Lab cassettes	9
4. AKTA flux 6 작동 준비.....	9
4.1 Flow line	9
4.2 Tubing setup.....	12
4.3 Calibration.....	13
5. AKTA flux 6 작동.....	15
5.1 시스템 On/Off.....	15
5.2 시스템 시작	16
5.3 Cleaning in place.....	17
5.4 데이터 저장	18
5.5 알람 설정.....	19
6. 예시	20
6.1 150KDa 단백질 농축.....	20
6.2 150KDa 단백질 buffer 교환.....	21

1. AKTA flux 6 시스템 소개

AKTA flux 6는 농축 및 버퍼 교환을 할 수 있는 직교류 여과(Cross flow filtration) 타입의 filtration 기기입니다. 본 기기는 실험실 규모의 환경에서 교육이나 연구 목적, GMP(Good manufacturing practice) 환경에서 생산 목적으로 사용됩니다. 이 시스템은 필터의 기공 크기(filter pore size)에 따라 사용 용도가 다릅니다. Microfiltration 타입의 hollow fiber cartridges는 Cell clarification(셀 여과)/harvesting(셀 수확)에 사용되고, Ultrafiltration 타입의 cassettes/hollow fibers는 Protein concentration(단백질 농축) 및 diafiltration(투석여과)에 사용됩니다. AKTA flux 6는 최대 유속이 6L/min이라 장비명에 6가 붙었습니다.

2. 시스템 구성

A. System Control

i. AKTA flux 6의 전체그림

AKTA flux 6의 각각 모습과 명칭은 다음과 같습니다.

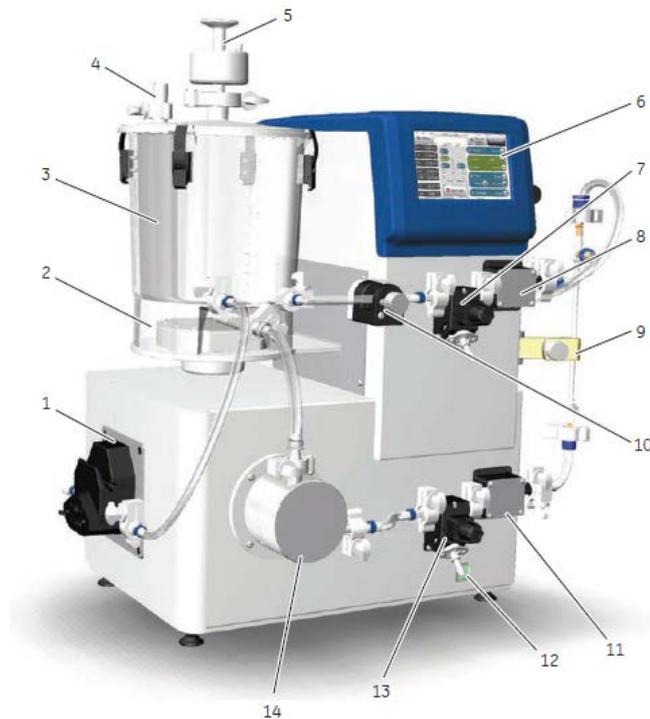


Figure 1. AKTA flux 6 구성 앞: (1) Transfer pump(optional) (2) Tank holder with tank balance and motor for mixer (3) Tank (4) Check valve (5) Air filter (6) Operator touchscreen (7) Upper drain valve (8) Retentate pressure sensor Pr (9) Filter holder for hollow fiber cartridge. (10) Retentate pressure control valve (11) Feed pressure sensor Pf and temperature sensor (12) Power switch (13) Lower drain valve (14) Feed pump로 구성되어 있습니다.

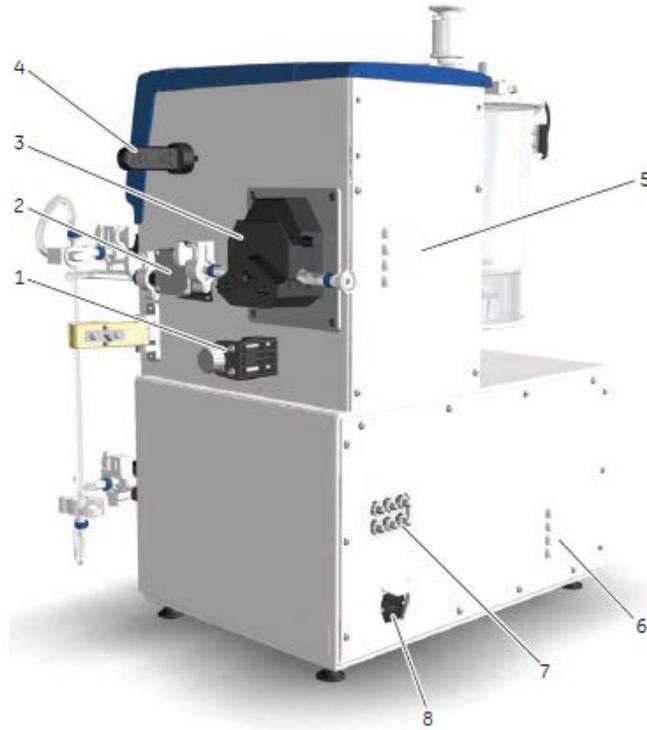


Figure 2. AKTA flux 6 구성 뒤: (1) Permeate pressure control valve (2) Permeate pressure sensor Pp (optional) (3) Permeate pump (optional) (4) USB-connector protection (5) Ventilation holes for cabinet cooling fan (6) Air inlet (7) Circuit breakers (8) Power cord connection and fuse drawer

ii. Main screen

AKTA flux 6의 앞면을 보시면 Operator touchscreen이 있습니다. 이 Panel 오른쪽에는 기기를 컨트롤 할 수 있는 화면이 있습니다. 화면 왼쪽에는 각각의 parameter를 나타내고 작동되고 있는 현재 수치를 나타내고 있으며, 중간부분은 흐름도를 볼 수 있습니다. 위 부분에는 간단한 정보를 나타내며, Setting, Logging start and stop, shutdown 버튼이 있습니다. 추가 옵션으로 사용하시는 pump를 설치하신다면 Lock을 해체하여 설치하지 않으시면 희미하게 나타납니다.

각각의 버튼의 설명은 다음과 같습니다.



Figure 3. Control panel: (1) Transfer (2) Level (3) Mixer (4) Feed pump (5) ΔP auto (6) Pf auto (7) Permeate

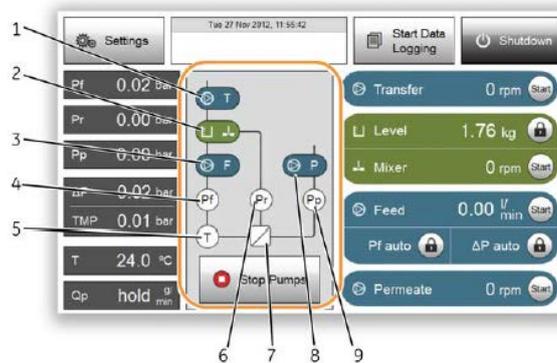


Figure 4. Process flowchart panel: (1) Transfer pump(optional) (2) Mixer and tank (3) Feed pump (4) Feed pressure sensor, Pf (5) Temperature sensor (6) Retentate pressure sensor, Pr (7) Filter (8) Permeate pump (optional) (9) Permeate pressure sensor,Pp (optional)



Figure 5. Parameter panel: (1) **Pf**, feed pressure (2) **Pr**, retentate pressure (3) **Pp**, permeate pressure (4) **ΔP**, Δpressure, $\Delta P = P_f - P_r$ (5) **TMP**, transmembrane pressure, $TMP = [(P_f + P_r)/2] - P_p$ (6) **T**, system temperature (7) **Qp**, Calculated permeate flow

B. Standard equipment

i. Feed pump, pressure sensors and pressure control valve

Feed line을 연결하는 diaphragm pump입니다. Pressure sensors는 Recirculation loop 역할을 합니다. Housing과 diaphragm 사이에 연결된 액체 흐름의 압력을 측정합니다. 종류로는 The feed pressure sensor(**Pf**), The retentate pressure sensor(**Pr**)가 있습니다.

Pressure control valves는 2개 설치 되어 있습니다. 첫번째는 The retentate pressure control valve로 전체적인 retentate pressure을 조절할 수 있으며, filter로 가해지는 압력을 조절하는 장치입니다. 두번째인 The pressure control valve는 permeate부분에 설치 되어있고 permeate filter out부분과 permeate line 압력을 조절합니다.

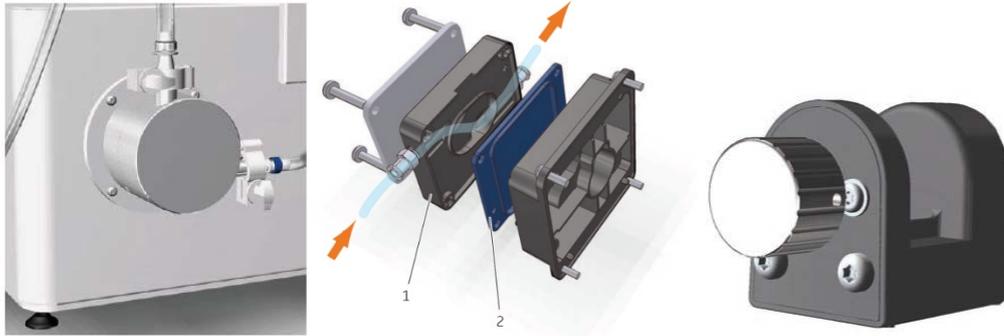


Figure 6. Feed pump, Pressure sensors - (1)Housing (2)Diaphragm, Pressure control valve

ii. Tank

AKTA flux 6는 8L tank이며 Feed outlet, transfer inlet, retentate inlets과 연결 되어있습니다. Tank에는 check valve, air filter, magnetic stir bar가 설치 되어 있으며 Volume은 무게 기반으로 측정됩니다.



Figure 7. Tank의 구성품: (1) Air filter (2) Check valve (3) Tank lid (4) Level indication (5) Magnetic stir bar (6) Retentate inlet (7) Feed outlet (8) Transfer inlet

iii. USB connection

USB를 연결할 수 있는 곳이 있으며 보호캡으로 씌어져 있습니다. 시스템 리포트와 데이터를 저장할 수 있습니다.



Figure 8. USB connection 위치(Cap을 제거 후에 usb를 연결하시면 됩니다.)

C. Optional equipment

i. Transfer pump

Transfer pump는 추가 물품으로 설치하면 화면이 활성화 되면서 Transfer line을 이용하실 수 있습니다.

ii. Permeate pump

Permeate pump는 추가 물품으로 설치하면 화면이 활성화 되면서 permeate flow를 이용하실 수 있습니다. Permeate pump는 permeate pressure sensor도 함께 설치하여 사용 하셔야 합니다.

iii. Permeate pressure sensor

Permeate line을 이용하실 때 압력을 확인하면서 Permeate pressure sensor를 모니터링 할 수 있습니다. Permeate pressure를 컨트롤 할 때 Permeate pressure sensor가 사용됩니다.

iv. Kwick Lab cassette holder II

Kwick Lab cassette를 이용하실 때 사용되는 holder입니다. 1개의 holder에는 최대 3개의 cassette 사용을 추천 드립니다.



Figure 9. Kwick Lab cassette holder II

3. Filter device

A. Hollow fiber cartridges

Hollow fiber(HF) cartridges는 여러 개의 Hollow fiber lumen이 들어 있습니다. Pore의 크기는 결정하는 기준은 Permeate 되어 나가는 부분과 cut-off 되어 남는 particle 크기를 확인한 후 선택하게 됩니다. Permeate는 lumen의 벽에 있는 섬유로 침투하여 섬유의 밖에 모여 connector의 한 방향으로 나가게 됩니다. Inlet과 Outlet의 내경과 길이는 확인이 필요합니다.

AKTA flux 6는 GE Hollow Fiber Cartridges Start AXM, Xampler™ 3M, 3x2M, 4M and 4x2M를 사용할 수 있습니다.



Figure 10. Hollow fiber cartridges

B. Kwick Lab cassette

Kwick Lab cassettes는 AKTA flux 6에 사용할 수 있습니다. Kwick Lab cassettes은 최대 3개까지 부착하실 수 있습니다. Inlet과 Outlet의 내경과 길이는 확인이 필요합니다.

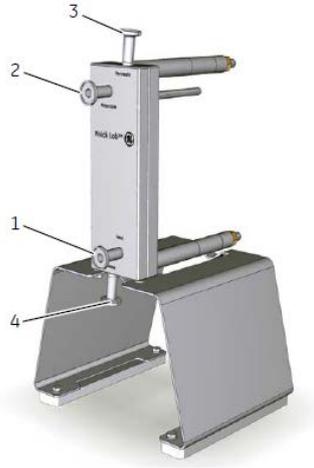


Figure 12. Kwick Lab cassettes and holder II (1) feed inlet, (2) retentate outlet, (3) permeate outlet, (4) permeate port

Kwick Lab and Kwick Flow cassettes User manual(article number #18117169).

Kwick Lab Cassette Holder II User Manual(article number #29027161).

Cross flow filtration Method Handbook(article number #29085076).

4. AKTA flux 6 작동 준비

A. Flow line

i. Recirculation loop

Feed line과 retentate line로 구성 되어 있습니다. Feed line은 Tank에서 feed pump를 통해서 filter로 액체를 보냅니다. Retentate에 있는 particle이나 molecules은 filter의 구멍보다 크기 때문에 필터를 지나 tank로 retentate line으로 돌아갑니다. Drain valve는 2개가 있습니다. 밑 쪽 valve(filter 앞쪽)는 filter를 지나지 않고 tank에서 빠지고 위 쪽 valve(filter 뒤쪽)은 filter를 지나고 tank로 돌아오지 않고 빠집니다.

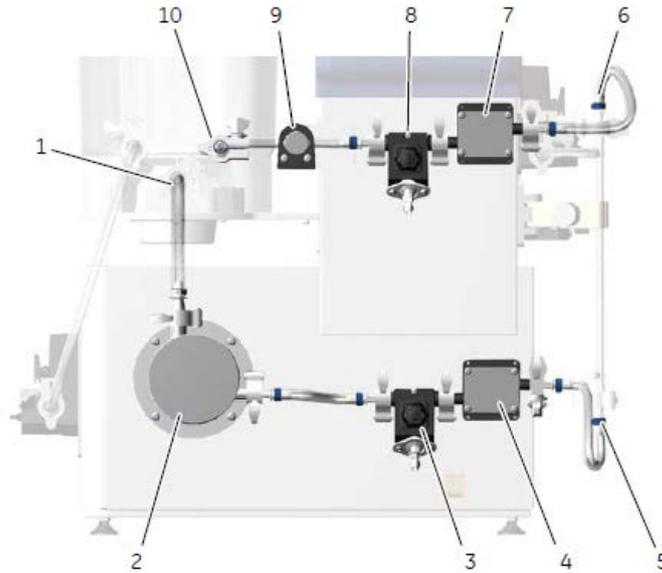


Figure 13. Recirculation loop에 대한 설명: (1) Tank - Feed outlet → (2) Feed pump → (3) lower drain valve → (4) Feed pressure sensor(Pf) → (5) Feed inlet - filter → (6) filter - Retentate outlet → (7) Retentate pressure sensor(Pr) → (8) Upper drain valve → (9) Retentate pressure control valve → (10) Retentate inlet - Tank 순서로 흐릅니다.

ii. Permeate line

Permeate line의 경우 flux control이 필요하면 pump가 필요합니다. Filter를 충분히 지나갈 수 있는 크기의 particle이나 molecule의 액체들은 permeate로 모인 액체입니다. Permeate는 filter를 지나 filter에 permeate outlet으로 나오게 됩니다. Permeate pressure valve는 permeate 부분에 있으며, permeate filter outlet 방향의 압력을 조절하거나 닫을 수 있습니다.

Permeate outlet은 tank로 연결 가능하며, tank로 연결하게 되면 되돌아가는 흐름이 됩니다. Permeate recycling은 조건의 안정화나 TMP 측정에 사용됩니다. Permeate line은 permeate pump와 pressure sensor가 있습니다. Permeate pump는 Permeate 흐름의 유속을 조절하고 permeate pressure sensor(Pp)로 압력을 측정합니다.

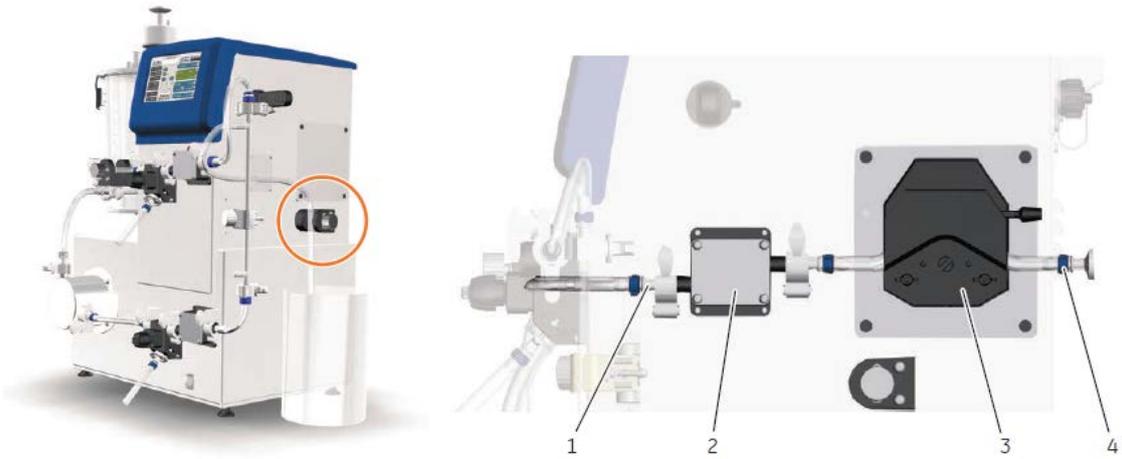


Figure 14. Permeate에 대한 설명: (1) Permeate pressure inlet → (2) permeate pressure sensor → permeate pump → (4) pump - permeate pump 순서로 흐릅니다.

iii. Transfer line

Transfer line은 Transfer pump를 추가적으로 요구됩니다. Transfer pump는 외부 자원에서 물질을 Tank로 공급합니다. Transfer pump는 빠져나가는 permeate를 채우기 위해 양을 설정하면 새로운 액체로 그 양을 채웁니다.

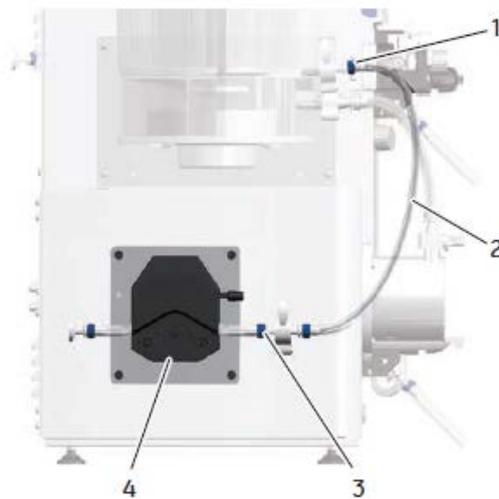
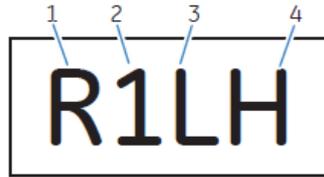


Figure 15. Transfer line에 대한 설명: (1) Transfer inlet, (2) Transfer line, (3)Transfer outlet (4)transfer pump. (4) → (1) 순서로 필요한 물질을 운반합니다.

B. Tubing setup

i. Tubing의 명칭



Location	Tag	Description
1	D	Drain line
	F	Feed line
	P	Permeate line
	R	Retentate line
	T	Transfer line
2	1, 2, 3...	Order in the line
3	L	Line tubing
4	H, L	H High flow rate
		L Low flow rate
	PE	Pump tubing for optional pumps, i.e. transfer pump and permeate pump
	UL	Tubing included for user flexibility

ii. Cleaning in place(CIP) tubing



Part	Tag	Description	Tubing size (inner diameter)
1	FF2L	Tubing from feed pressure sensor	6.4 mm
2		T-piece for CIP	
3	FF3L	Tubing to retentate pressure sensor	6.4 mm
4	FF5	Tubing to permeate pressure sensor	6.4 mm

C. Calibration

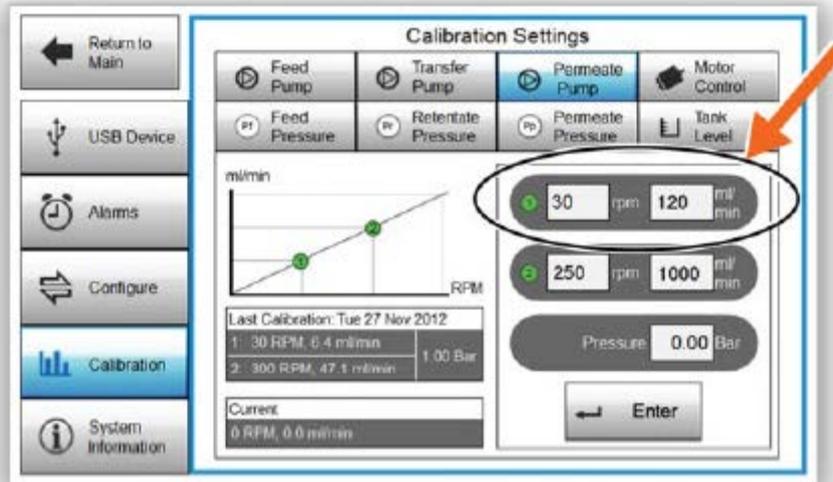
Calibration 항목으로는 설치되어 있는 pump, Tank level, Pressure sensors의 zero값, Motor RPM range, pressure sensor의 full range이 있습니다. Motor RPM range와 pressure sensor의 full range는 최초 기기 설치 시 calibration하여 기기를 설치하게 됩니다. 기기 설치시에 내장된 pump는 run을 돌리시기 전에 calibration 하는것을, Tank level의 경우 tank 사용 전 zero calibration을 해주시는 것을 추천 드립니다.

i. Feed pump, Transfer pump, permeate pump



(1) Pump의 inlet tubing과 outlet tubing을 확인합니다.

(2) 그림과 같이 Inlet tubing은 A tank, outlet tubing은 B tank로 위치합니다.



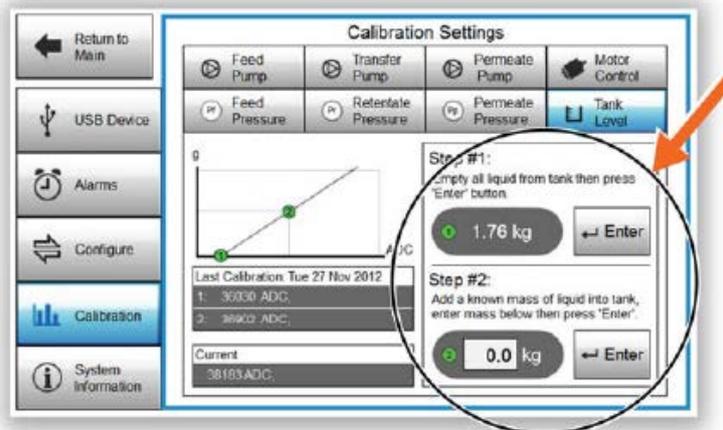
(3) A tank에 액체를 채운 후 낮은 rpm으로 pump를 작동시켜 ml/min을 측정합니다. (30rpm 추천)

(4) 높은 rpm으로도 마찬가지로 측정합니다. (300rpm 추천)

(5) Back Pressure은 0 bar로 된 후 Enter를 누르시면 됩니다.

(6) Feed pump, Transfer pump, Permeate pump는 같은 방법으로 calibration 합니다.

ii. Tank level



(1) Tank가 비어져 있는 상태로 Step #1의 Enter를 누릅니다.

(2) 외부에서 측정하여 확인된 무게의 액체를 tank에 담아 Step #2에 그 무게를 기입한 후 Enter를 누릅니다.

5. AKTA flux6s 작동

A. 시스템 On/OFF

i. Feed pump, Transfer pump, permeate pump



i. 시스템 On

(1) 아래 스위치를 I 위치에 두어 초록불이 들어오도록 합니다.

(2) 위쪽 screen에서 자동으로 부팅되어 켜질 때까지 기다립니다.

ii. 시스템 OFF

(1) 위쪽 screen에서 자동으로 꺼질 때까지 기다립니다.

(2) 아래 스위치를 O 위치에 두어 초록불을 끄도록 합니다..

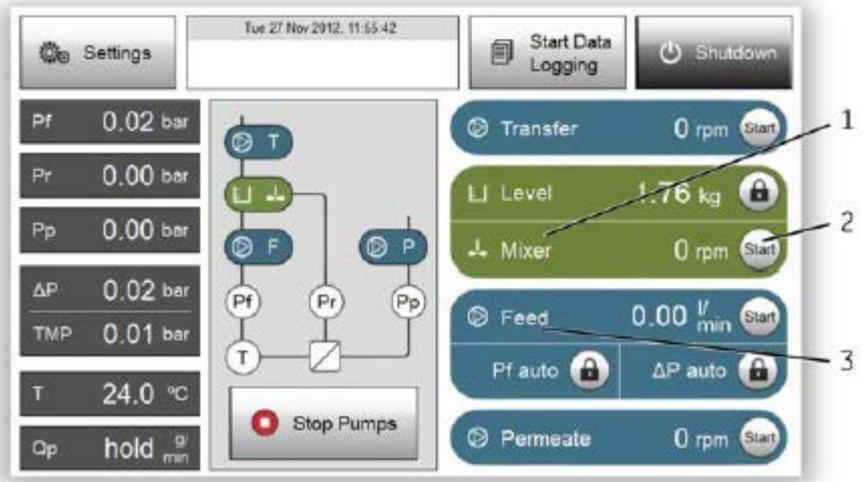
B. 시스템 시작

i. 기본적인 filtration

기본적인 filtration은 원하시는 filter를 설치 후 sample을 넣고 기기를 작동하는 방법입니다.

Optional equipment의 경우 설치되어 있지 않다면 불투명한 색깔로 나타나게 됩니다.

(1) Tubing와 filter를 연결한 후 준비합니다.



- (2) 용액을 tank에 채우고 mixer를 원하는 rpm로 작동시킵니다.
- (3) Feed pump를 작동시켜 Recirculation loop를 통과하여 순환시킵니다.
- (4) Ultrafiltration의 경우 permeate line은 pump를 사용하지 않고 열어 사용합니다. Microfiltration의 경우 permeate line의 pump를 작동시켜 사용합니다.



- (5) (1)-(4) 부분을 기본 filtration 진행하시고 Transfer line을 사용할 경우 자물쇠 버튼을 눌러 고정할 무게를 설정한 후 activate를 누르시면 작동합니다.
- (6) (1)-(4) 부분을 기본 filtration 진행하시고 Pf 또는 ΔP를 고정하여 사용하려면 자물쇠 부분을 눌러 설정하신 후 activation 누르시면 작동합니다.

C. Cleaning in place

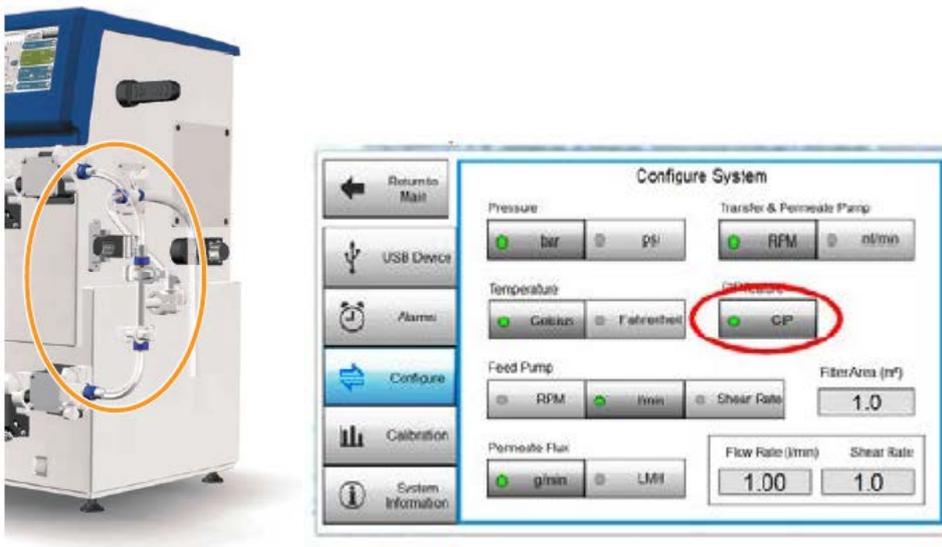
Filtration이 종료 된 후 기기와 filter를 세척하는 방법으로 기기와 filter의 효율적인 관리를 위해서 매번 기기를 작동한 후 해야 합니다. 기기Storage도 마찬가지입니다.

i. CIP(Cleaning in place) 방법

Filter를 분리하고 CIP를 할 수 있는 형태로 연결합니다. 연결 후 Configure에 들어가 CIP를 눌러줍니다. Feed pump가 최대 1600 rpm(6L/min)으로 1min간 흐르게 됩니다.

이 때 사용하시는 용액은 70% ethanol, detergents, weak acid, Sodium hydroxide and salt solution이 있습니다.

Filter를 세척하실 때에는 각 filter의 매뉴얼을 참조하시어 알맞은 유속과 시간에 따라 작동하시기 바랍니다.



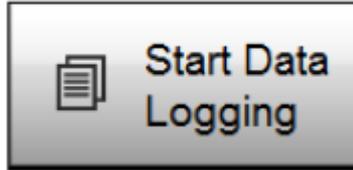
ii. Storage

- (1) CIP 하신 후 20% ethanol을 채워 미생물 성장을 막습니다.
- (2) AKTA flux s의 모든 부분을 막아 추가적인 오염이 되지 않도록 합니다.
- (3) Tubing의 용액이 흐르지 않도록 위쪽 방향으로 향하게 합니다.

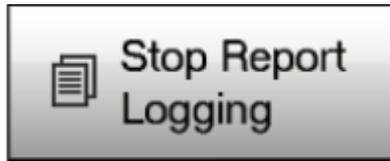
D. 데이터 저장

i. 데이터 저장 방법

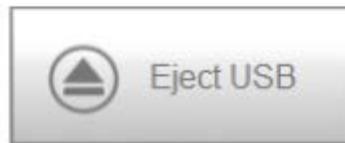
- (1) USB를 USB connector에 연결합니다.



- (2) Start Data Logging을 누르는 순간부터 저장됩니다.



- (3) Stop Report Logging을 누르시면 저장이 종료됩니다.



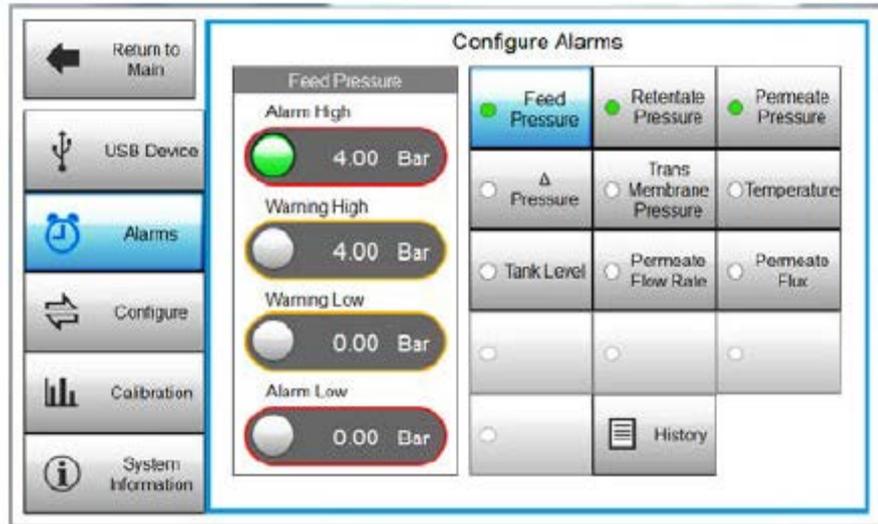
- (4) Settings의 USB device에 가서 Eject USB를 누르시면 USB 연결이 끊어집니다.

- (5) USB를 Connector에서 빼시면 됩니다.

E. 알람 설정

i. 알람 설정 방법

- (1) Settings의 alarms에 각각 기능의 알람을 설정하시면 됩니다.



- (2) Alarm High/Low의 경우, 수치가 넘거나 낮아지게 되면 pump의 작동이 멈춥니다.
- (3) Warning High/Low의 경우 수치가 넘거나 낮아지게 되면 경고창이 화면에 나타나게 됩니다.
- (4) Feed pressure, retentate pressure, permeate pressure에 초록불이 들어와 있는 것은 높은 압력에 대한 알람이 기기 자체에 기본으로 들어가 있습니다.
- (5) High 알람의 경우, 각 pump의 압력 및 TMP, permeate flux에 사용되며 설정하는 수치보다 높아질 경우 sample이나 filter에 영향을 미치기 때문에 사용합니다.
- (6) Low 알람의 경우, Tank level에 잘 사용되며 농축 또는 버퍼 교환 상황에서 sample이 고농축되거나 buffer가 없는 현상을 막기 위해서 사용됩니다.

6. 예시

A. 150KDa 단백질 농축

i. Filter 선정

Target 하는 단백질의 크기보다 3-5배 작은 pore size의 filter를 선택합니다. 그리고 단백질의 특성과 유속을 고려하여 membrane area를 선정하시면 됩니다. 저희는 Hollow fiber filter에서 UFP-30-C-4MA를 선택하였습니다.(Hollow fiber 선택은 Hollow fiber selection guide AC/18-1165-29 AC 02/2007을 참조하였습니다.)

ii. Clean In place(사용 전)

- (1) 0.5M NaOH를 tank에 넣고 feed pump를 작동시켜 1h-2h 흘려줍니다.
- (2) Drain valve를 열어 0.5M NaOH를 waste로 버린 후 water를 tank에 넣어서 지속적으로 흘려줍니다. pH가 7-8로 돌아올 때까지 계속 진행합니다.

iii. Filter 설치

- (1) Hollow fiber filter를 연결하여 Recirculation loop를 통과할 수 있도록 준비합니다.
- (2) Water를 tank에 넣고 feed pump를 작동시켜 새는 부분은 없는 지 확인하고 Pf의 압력과 Pr의 압력을 확인하여 제대로 순환되고 있는 지 확인합니다.

iv. Water flux 확인(사용 전)

- (1) 사용하실 TMP 값 조건을 정하고, 원하시는 Feed pump의 속도를 설정합니다.
- (2) Feed pump를 사용하여 5-10분 안정화되면 Permeate pump를 열어 LMH 값을 확인하여 사용하시는 Filter의 Water flux를 측정합니다.
- (3) Drain valve를 열어 사용했던 water를 제거합니다.

v. Buffer conditioning

- (1) 모든 Drain valve를 잠근 후 buffer를 채운 후 feed pump를 작동시킵니다.
- (2) 모든 line에 buffer를 충분히 흘려줍니다(Void volume을 채우기 위해).

vi. 기기 작동

- (1) 모든 Drain valve를 잠근 후 sample를 넣고 feed pump를 작동시킵니다.
- (2) 원하는 level까지 용량이 줄어들면 Drain valve를 열어 내 sample을 받으면 됩니다.
- (3) Sample와 동일한 소량의 buffer를 tank에 넣어 line을 씻어 주시고 충분히 recovery를 하여 동일하게 drain 라인으로 받고 다 받은 후 drain valve를 잠급니다.

vii. Filter 세척

- (1) Hollow fiber filter(GE 문서, 18116530 참조), Kwick Lab cassettes(GE 문서, 18117169)을 참조하여 세척방법을 확인하신 후 사용하시면 됩니다.

viii. Water flux 확인(사용 후)

- (1) 사용 전 water flux 확인하셨던 TMP 값 조건과 Feed pump의 속도를 설정합니다.
- (2) Feed pump를 사용하여 5-10분 안정화되면 Permeate pump를 열어 LMH 값을 확인하여 사용하시는 Filter의 Water flux를 측정합니다.
- (3) Filter를 해체하여 보관한다.(CFP는 비운 상태, UFP는 20% ethanol을 채움)

ix. Cleaning in place(사용 후)

- (1) 0.5M NaOH를 tank에 넣고 feed pump를 작동시켜 1h-2h 흘려줍니다.
- (2) Drain valve를 열어 0.5M NaOH를 waste로 버린 후 water를 tank에 넣어서 지속적으로 흘려줍니다. pH가 7-8로 돌아올 때까지 계속 진행합니다.
- (3) pH가 water의 pH와 유사하다면 water를 drain valve를 열어 waste로 버린 후 잠그고 20% ethanol을 흘려줍니다.
- (4) Drain valve를 열어 모든 line을 비운 상태에서 기기를 종료합니다.

B. 150KDa 단백질 buffer 교환

- i. Filter 선정
- ii. Clean In place(사용 전)
- iii. Filter 설치
- iv. Water flux 확인
- v. Buffer conditioning

앞서 '150KDa 단백질을 농축'과 동일하게 사용하시면 됩니다.

vi. 기기 작동

- (1) 모든 Drain valve를 잠근 후 sample를 넣고 feed pump를 작동시킵니다.
- (2) Transfer line쪽에 변경할 buffer를 준비하시고 line을 setting 합니다.
- (3) Level 부분에 설정하실 양을 설정하시고 자물쇠 버튼을 누릅니다.
- (4) 고객이 원하시는 양만큼 buffer 교환 후 Drain valve를 열어 내 sample을 받으면 됩니다.

(5) Sample와 동일한 소량의 buffer를 tank에 넣어 line을 씻어 주시고 충분히 recovery를 하여 동일하게 drain 라인으로 받고 다 받은 후 drain valve를 잠급니다.

- vii. Filter 세척
- viii. Water flux 확인(사용 후)
- ix. Cleaning in place(사용 후)

앞서 '150KDa 단백질을 농축'과 동일하게 CIP를 하시고 추가적으로 transfer line도 씻어주면 됩니다.